



УДК 547.712.22.057+615.281.9

## СИНТЕЗ И *IN VITRO*-АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ НОВЫХ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ПО С3-ПОЛОЖЕНИЮ КАРБАПЕНЕМОВ

© 2019 г. З. Р. Валиуллина\*, А. М. Галеева\*, Ф. А. Гималова\*, Н. К. Селезнева\*,  
Л. С. Хасанова\*, А. Р. Мавзютов\*\*, М. С. Мифтахов\*.\*#

\*Уфимский институт химии Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук,  
Россия, 450054, Уфа, просп. Октября, 69

\*\*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение Башкирский государственный  
медицинский университет МЗ РФ, Россия, Уфа, ул. Ленина, 3

Поступила в редакцию 01.11.2018 г.

После доработки 25.01.2019 г.

Принята к публикации 15.02.2019 г.

Новые С3-модифицированные карбапенемы синтезированы Ad<sub>N</sub>E-замещением 3-енолфосфатной группы 4-нитробензил-(4*R*,5*S*,6*S*)-3-[(дифенилфосфорил)окси]-6-[(1*R*)-1-гидроксиэтил]-4-метил-7-оксо-1-азабицикло[3.2.0]гепт-2-ен-2-карбоксилата соответствующими тиолами в среде ацетонитрила при содействии диизопропилэтиламина (DIPEA). В качестве тиолов использованы метиловый эфир меркаптоуксусной кислоты, фурил-2-метилтиол, 2-(4-метилпиперазин-1-ил)-2-оксоэтантол и метил-*N*-(меркаптоацетил)метионинат. В результате получены ожидаемые 4-нитробензиловые эфиры: 3-[(2-метокси-2-оксоэтил)тио]-, 3-[(2-фурилметил)тио]-, 3-[[2-(4-метилпиперазин-1-ил)-2-оксоэтил]тио]-, 3-[[2-((*S*)-1-метоксикарбонил-3-тиометил-1-пропил)амино]-2-оксоэтилтио]производных (4*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1*R*)-1-гидроксиэтил-4-метил-7-оксо-1-азабицикло[3.2.0]гепт-2-ен-2-карбоновой кислоты, выходы которых после очистки колоночной хроматографией составили 67–87%. Полученные *n*-нитробензиловые (pNb) эфиры карбапенемов гидрогенолизом над 10% Pd/C в метаноле превращены в соответствующие кислоты. Изучена антибактериальная активность полученных карбапенемов и предшествующих им pNb-эфиров по отношению к микроорганизмам *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Streptococcus oralis*. Найдены соединения, превосходящие по активности известные препараты Меропенем и Цилапенем.

**Ключевые слова:** карбапенемнолфосфат, меркаптоуксусная кислота, амиды, синтез, карбапенемы, антибактериальная активность

**DOI:** 10.1134/S0132342319040134

### ВВЕДЕНИЕ

Одна из глобальных проблем в лечении инфекционных заболеваний антибиотиками заключается в выработке микроорганизмами резистентных линий штаммов, что ведет к тяжелым последствиям для больных. Признанный и действенный подход к решению проблем резистентности – создание и внедрение новых или структурно измененных аналогов известных антибиотиков [1, 2].

Несмотря на давнюю историю и разработанность бета-лактамовых антибиотиков этот класс

антибиотиков и сегодня представляет особый интерес для лечения бактериальных инфекций [3] и поиска новых хемотерапевтических агентов. Механизм действия бета-лактамов связан с их способностью к ковалентному связыванию с ферментами, участвующими в построении клеточной стенки бактерий, и образованию нежизнеспособных дефектных клеток, что, в итоге, приводит к их гибели.

В ряду антибиотиков бета-лактамового ряда карбапенемы являются наиболее эффективными низкотоксичными представителями широкого спектра действия. Ключевой структурой этих соединений является 7-оксо-1-азабицикло[3.2.0]гепт-2-ен-2-карбоновая кислота, которая и обуславливает их высокую устойчивость к бета-лактамазам [4]. Наличие 1*R*-гидроксиэтильной группы в положении С6 карбапенемов приводит к значительному усилению антибактериальной активности, а также защищает бета-лактамовое кольцо, обеспечивая

Сокращения: Ad<sub>N</sub>E – нуклеофильное присоединение-отщепление (nucleophilic addition/elimination); DIPEA – диизопропилэтиламин; DMSO – диметилсульфоксид; pNb – *n*-нитробензил; МПК – минимальная подавляющая концентрация, ПКО – положительный контрольный образец, ОКО – отрицательный контрольный образец.

# Автор для связи: (тел.: +7 (347) 235-58-47; факс: +7 (347) 235-60-66; эл. почта: bioreg@anrb.ru).

**Таблица 1.** *In vitro*-антибактериальная активность соединений (IIIa, б)–(VIa, б)

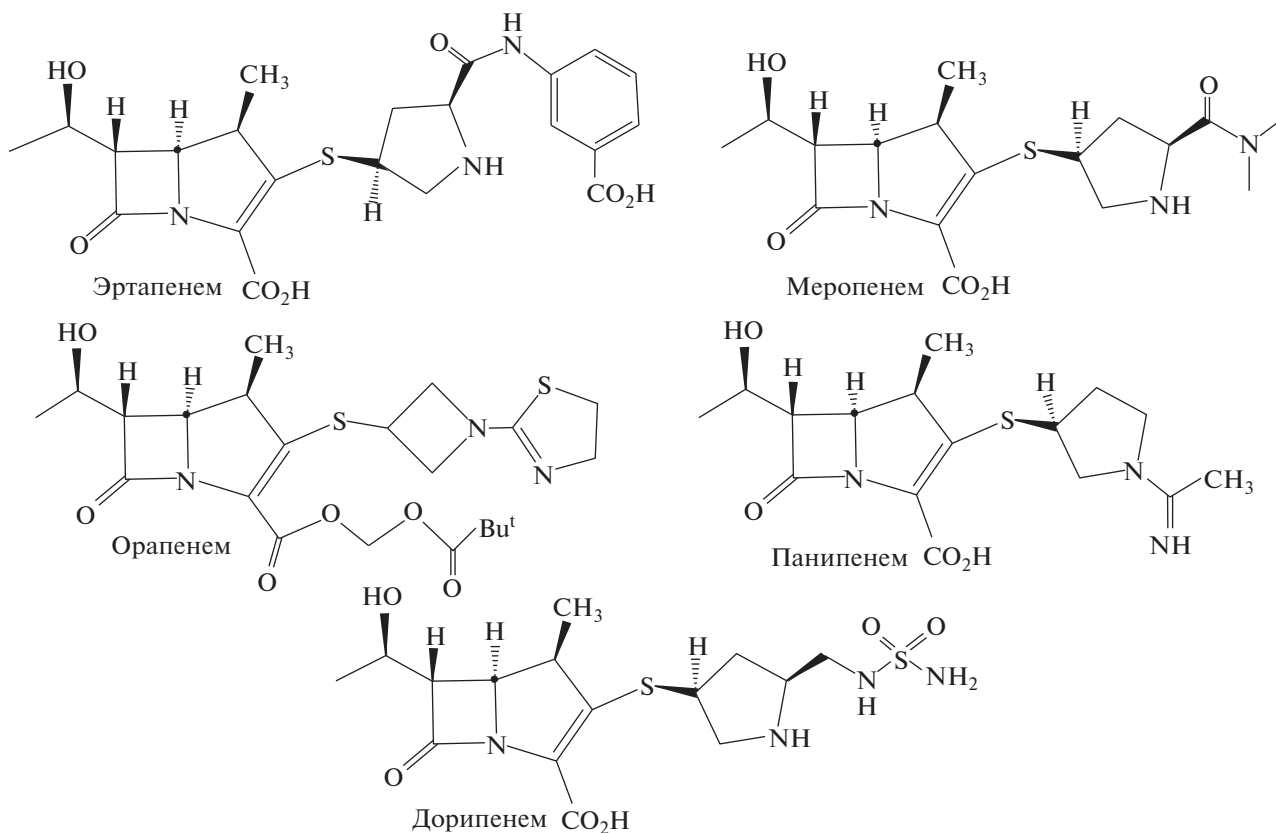
Микро-организмы	МПК (мкг/мл)								Меропенем	Цилапенем
	(IIIa)	(IIIб)	(IVa)	(IVб)	(Va)	(Vб)	(VIa)	(VIб)		
<i>E. coli</i>	>0.5	0.5	0.015	2.0	0.015	>32.0	0.031	0.5	1.0	0.5
<i>Ps. aeruginosa</i>	0.031	0.5	0.031	0.5	0.031	2.0	0.031	4.0	2.0	>4
<i>Str. oralis</i>	0.015	0.125	0.031	1.0	0.031	0.125	0.015	0.125	1.0	4.0
<i>C. albicans</i>	0.5	0.5	0.015	0.5	0.015	0.25	0.031	0.125	1.0	4.0

стабильность антибиотиков в отношении действия бета-лактамаз. Структуры некоторых из используемых на практике карбепенемовых антибиотиков (рис. 1) с химической точки зрения различаются только заместителем SR при С3, остальная часть молекул практически одинакова.

Показанные на рис. 1 1-метилкарбепенемы получены путем химического синтеза. К настоящему времени предложен ряд синтетических подходов, получено значительное количество производных карбепенемов и изучены их фармакологические свойства [5–8]. Тем не менее, из-за проблем резистентности исследования по поиску новых антибиотиков этого ряда и модифицированию известных актуальны по сей день. Структурно-ориентированный анализ имеющегося массива известных препаратов карбепенемовых антибиотиков позволяет оценить наиболее перспективные направле-

ния их модифицирования. Прежде всего, следует отметить то, что ответственные за биоактивность бета-лактаманый цикл и бициклическая часть с боковым 6-(1-гидроксиэтильным) заместителем в структурно-ориентированных синтезах остаются без изменений.

При получении клинически сбалансированных соединений (см. например, рис. 1) основные структурные изменения проведены в SR-фрагменте с включением в структуру карбепенемов (кроме орапенема) пирролидинового цикла с *N*-содержащим заместителем в положениях 2 или 3 кольца пирролидина. Модификации по карбоксильной группе карбепенемов редки [9, 10] и связаны они с получением сложных эфиров (пролекарства), что важно в плане увеличения липофильности препарата для орального применения (см., напр., структуру Орапенема).



**Рис. 1.** Структуры некоторых используемых на практике 1-метилкарбепенемов.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В данной работе в модифицировании SR-части карбапенемов мы запланировали использовать некоторые производные меркаптоуксусной кислоты и фурил-2-метилтиола. Этот выбор обусловлен желанием заменить применяемые в синтезе карбапенемов из фосфоната (I) тиолы общей формулы HSR, включающие пирролидиновый цикл и получаемые в большинстве методик из доргостоящего *транс*-4-гидрокси-*L*-пролина [11], на легкодоступные аналоги, в частности, на амиды меркаптоуксусной кислоты.

В синтезе производных карбапенемов наиболее практичны подходы, исходящие из ключевого (4-нитробензил)-(4*R*)-3-[(дифенилфосфорил)окси]-6-[(1*R*)-1-гидроксиэтил]-4-метил-7-оксо-1-азабицикло[3.2.0]гепт-2-ен-2-карбоксилата (I) [12, 13], в котором дифенилфосфатная группа в мягких условиях замещается на RS-остаток тиолов RSH с образованием карбапенемов общей формулы (IIa), которые последующим гидрогенолизом превращают в целевые карбапенемы (IIb) [14–16]. По этой схеме, вводя в реакцию с фосфонатом (I) соответствующие, не содержащие пирролидиновый цикл тиолы (VII)–(X), мы синтезировали ряд защищенных по карбоксильной группе карбапенемов (IIIa)–(VIa) и после снятия рNb-эфирных групп – целевые карбапенемы (IIIб)–(VIб) (схема 1).

После очистки колоночной хроматографией на SiO<sub>2</sub> рNb-эфиры (IIIa)–(VIa) были выделены с чистотой ~98%. При выделении кислот (IIIб)–(VIб) рекомендуемая обращено-фазовая хроматография на Diaion HP-20 [9] с последующей липофилизацией не применялась из-за неоправданно высоких потерь целевых соединений в ходе очистки. Применяемая нами методика проста и включает фильтрацию гидрогенолизата от катализатора, упаривание раствора и вакуумирование остатка для удаления побочного нитротолуола. В этом случае чистота полученных образцов (IIIб)–(VIб) согласно данным <sup>1</sup>H- и <sup>13</sup>C-ЯМР была на уровне ~95%.

На антибактериальную активность *in vitro* ряду с кислотами (IIIб)–(VIб) мы тестировали также рNb-эфиры (IIIa)–(VIa) и известные препараты Меропенем и Цилапенем (табл. 1). Как видно из данных табл. 1, в ряду рNb-эфиров (IIIa)–(VIa) в отношении четырех испытанных микроорганизмов (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus oralis* и *Candida albicans*) наиболее активны соединения (IVa) и (Va), содержащие в заместителе SR соответственно фрагменты фурана и пиперазина, соответственно. Кислоты (IIIб)–(VIб) по активности в целом уступают рNb-эфирам, но более активны в сравнении с Меропенемом и Цилапенемом.

Таким образом, в работе представлены новые карбапенемы и их рNb-эфиры (IIIa, б)–(VIa, б), содержащие при C3 заместители SR, где R – сложноэфирная, сульфидная и амидная группы,

и показавшие антибактериальную активность в отношении *E. coli*, *Ps. aeruginosa*, *Str. oralis* и *C. albicans*. Результаты биотестирования будут учтены в выборе перспективных для последующих исследований соединений.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ХИМИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

ИК-спектры ( $\nu$ , см<sup>-1</sup>) получены на спектрофотометре “IR Prestige-21 Shimadzu” для образцов в тонком слое. Спектры <sup>1</sup>H- и <sup>13</sup>C-ЯМР записаны на спектрометрах “Bruker AM-300” с рабочими частотами 300.13 и 75.47 МГц и “Bruker AVANCE-500” с рабочими частотами 500.13 и 125.77 МГц соответственно, значения химических сдвигов ( $\delta$ , м.д.) приведены с использованием в качестве внутренних стандартов остаточные протоны растворителей CDCl<sub>3</sub> ( $\delta$  7.270), ацетон-*d*<sub>6</sub> ( $\delta$  2.09) (для соединения VIa) или метанол-*d*<sub>4</sub> ( $\delta$  3.34) (для карбоновых кислот (IIIб)–(VIб)), константы спин-спинового взаимодействия (*J*) измерены в герцах. Масс-спектры получены на масс-спектрометре LCMS-2010EV (Shimadzu) (шприцевой ввод, раствор образца в хлороформе/ацетонитриле при расходе 0.1 мл/мин, элюент – ацетонитрил/вода (95/5) в режиме регистрации положительных ионов при потенциале игольчатого ионизирующего электрода 4.5 кВ; температура капилляра интерфейса 250°C, напряжение на капилляре интерфейса 5 В). Данные элементного анализа синтезированных соединений получены на CHNS-анализаторе EURO EA-2000. Углы оптического вращения измерены на приборе Perkin-Elmer-341. Ход реакции контролировали методом ТСХ на пластинках “Сорбфил” (Россия) с обнаружением веществ смачиванием пластинок раствором анисового альдегида и серной кислоты в этаноле с последующим нагреванием при 120–150°C. Продукты синтеза выделяли методом колоночной хроматографии на силикагеле (30–60 г адсорбента на 1 г вещества) с использованием в качестве элюента систему петролейный эфир–этилацетат в соотношении от 3 : 1 до 1 : 1 или хлороформ–метанол, 10 : 1. Для хроматографирования использовали свежеперегранные растворители.

Для получения карбапенемов использовали 4-нитробензил-(4*R*)-3-[(дифенилфосфорил)окси]-6-[(1*R*)-1-гидроксиэтил]-4-метил-7-оксо-1-азабицикло[3.2.0]гепт-2-ен-2-карбоксилат (I) фирмы ABCR GMBH (Германия).

Тиолы (IX) и (X) синтезированы нами взаимодействием 2-этокси-1,3-оксатиолан-5-она с *N*-метилпиперазином и метиловым эфиром метионина; их полные методы синтеза будут описаны в отдельной публикации.

**Общая методика получения соединений (IIIa)–(VIa).** К перемешиваемому раствору 0.50 ммоль фосфоната (I) в 10 мл безводного CH<sub>3</sub>CN при 0°C добавляли по каплям раствор 0.60 ммоль соответствующего тиола в 3–5 мл ацетонитрила и затем

добавляли 0.60 ммоль диизопропилэтиламина (DIPEA), реакционную массу перемешивали 0.5–12 ч при комнатной температуре (контроль методом ТСХ), упаривали. Продукты реакции выделяли колоночной хроматографией на SiO<sub>2</sub>.

**(4-Нитробензил)-(4*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1*R*)-1-гидроксиэтил]-3-[(2-метокси-2-оксоэтил)тио]-4-метил-7-оксо-1-азабицикло[3.2.0]гепт-2-ен-2-карбоксилат (IIIa).** Получали по общей методике из 0.29 г (0.50 ммоль) фосфоната (I), 0.06 мл (0.60 ммоль) метилового эфира 2-меркаптоуксусной кислоты (VII) и 0.1 мл (0.60 ммоль) DIPEA (2 ч, 0→20°C). Продукт очищали колоночной хроматографией на SiO<sub>2</sub> (элюент – петролейный эфир–этилацетат, 1 : 1). Выход 0.30 г (67%). Белые кристаллы, т. пл. 160–161°C.  $[\alpha]_D^{20} +60.1^\circ$  (*c* 1.05, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). ИК-спектр: 3370, 1732, 1665, 1439, 1202, 1092. Спектр <sup>1</sup>H-ЯМР: 1.10 (д, 3H, *J* 7.3, CH<sub>3</sub>), 1.13 (д, 3H, *J* 6.3, CH<sub>3</sub>), 3.20 (дд, 1H, *J* 2.4, 6.6, H6), 3.38 (д, 1H, *J* 15.1, SCH<sub>2</sub>), 3.38 (д, 1H, *J* 15.1, SCH<sub>2</sub>), 3.53 (дк, 1H, *J* 8.8, 7.3, H4), 3.68 (с, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4.19 (дк, 1H, *J* 6.6, 6.3, CH–OH), 4.21 (дд, 1H, *J* 2.4, 8.8, H5), 5.16 (д, 1H, *J* 14.2, OCH<sub>2</sub>Ph), 5.43 (д, 1H, *J* 14.2, OCH<sub>2</sub>Ph), 7.65 (д, 2H, *J* 8.6, H<sub>Ar</sub>), 8.10 (д, 2H, *J* 8.6, H<sub>Ar</sub>). Спектр <sup>13</sup>C-ЯМР: 16.57 (CH<sub>3</sub>), 21.82 (CH<sub>3</sub>), 33.07 (SCH<sub>2</sub>), 43.19 (C4), 52.89 (OCH<sub>3</sub>), 56.12 (C6), 59.60 (C5), 65.34 (OCH<sub>2</sub>Ph), 65.87 (CH–OH), 123.71 (CH<sub>Ar</sub>), 124.93 (C2), 128.14 (CH<sub>Ar</sub>), 142.83 (C<sub>Ar</sub><sup>i</sup>), 147.59 (C3), 149.87 (C<sub>Ar</sub><sup>i</sup>), 160.23 (CON), 169.28 (CO<sub>2</sub>), 172.56 (CO<sub>2</sub>). Масс-спектр, *m/z* (*I*<sub>отн</sub>, %): 451 (100) [*M* + H]<sup>+</sup>, 365 (17).

**(4-Нитробензил)-(4*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1*R*)-1-гидроксиэтил]-4-метил-7-оксо-3-[(2-фурилметил)тио]-1-азабицикло[3.2.0]гепт-2-ен-2-карбоксилат (IVa).** Получали по общей методике из 0.29 г (0.50 ммоль) фосфоната (I), 0.06 мл (0.60 ммоль) фурил-2-метилтиола (VIII) и 0.1 мл (0.60 ммоль) DIPEA (12 ч, 0→20°C). Очищали колоночной хроматографией на SiO<sub>2</sub> (элюент – петролейный эфир–этилацетат, 3 : 1→1 : 1). Выход 0.16 г (78%). Белые кристаллы, т. пл. 134–135°C.  $[\alpha]_D^{20} +40^\circ$  (*c* 1.02, CHCl<sub>3</sub>). ИК-спектр: 3360, 1759, 1670, 1274, 1092, 985. Спектр <sup>1</sup>H-ЯМР: 1.25 (д, 3H, *J* 7.3, CH<sub>3</sub>), 1.47 (д, 3H, *J* 6.3, CH<sub>3</sub>), 3.28 (д.д, 1H, *J* 2.4 и 6.7, H6), 3.55 (1H, дк, *J* 9.2, 7.3, H4), 3.98 (д, 1H, *J* 14.9, SCH<sub>2</sub>), 4.16 (д, 1H, *J* 14.9, SCH<sub>2</sub>), 4.20 (дд, 1H, *J* 2.4, 9.2, H5), 4.27 (дк, 1H, *J* 6.7, *J* 6.3, CH–OH), 5.23 (д, 1H, *J* 13.8, CH<sub>2</sub>Ph), 5.00 (д, 1H, *J* 13.8, CH<sub>2</sub>Ph), 6.21 (д, 1H, *J* 3.2, H<sub>fur</sub>), 6.33 (дд, 1H, *J* 1.6, 3.2, H<sub>fur</sub>), 7.35 (д, 1H, *J* 1.6, H<sub>fur</sub>), 7.65 (д, 2H, *J* 8.6, H<sub>Ar</sub>), 8.20 (д, 2H, *J* 8.6, H<sub>Ar</sub>). Спектр <sup>13</sup>C-ЯМР: 16.17 (CH<sub>3</sub>), 21.94 (CH<sub>3</sub>), 28.59 (SCH<sub>2</sub>), 43.28 (C4), 56.10 (C6), 59.61 (C5), 65.30 (OCH<sub>2</sub>Ph), 66.02 (CH–OH), 108.36, 110.79 (C<sub>fur</sub><sup>3</sup> и C<sub>fur</sub><sup>4</sup>), 123.75 (CH<sub>Ar</sub>), 124.34 (C2), 128.17 (CH<sub>Ar</sub>), 142.62 (C<sub>fur</sub><sup>5</sup>), 142.99 (C<sub>fur</sub><sup>2</sup>), 147.58 (C3), 150.04 (C<sub>Ar</sub><sup>i</sup>), 151.40 (C<sub>Ar</sub><sup>i</sup>), 160.30

(CON), 172.0 (CO<sub>2</sub>). Масс-спектр, *m/z* (*I*<sub>отн</sub>, %): 459 (100) [*M* + H]<sup>+</sup>, 373 (28). Найдено, %: С, 57.54; Н, 4.91; N, 6.01; S, 7.06. C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>S. Вычислено, %: С, 57.63; Н, 4.84; N, 6.11; S, 6.99.

**(4-Нитробензил)-(4*R*,5*S*,6*S*)-6-[(1*R*)-1-гидроксиэтил]-4-метил-3-[[2-(4-метилпиперазин-1-ил)-2-оксоэтил]тио]-7-оксо-1-азабицикло[3.2.0]гепт-2-ен-2-карбоксилат (Va).** Получали по общей методике из 0.29 г (0.50 ммоль) фосфоната (I), 0.11 г (0.60 ммоль) 2-(4-метилпиперазин-1-ил)-2-оксоэтангиола (IX) и 0.10 мл (0.57 ммоль) DIPEA (3 ч, 0°C). Очищали колоночной хроматографией на SiO<sub>2</sub> (хлороформ–метанол, 10 : 1). Выход 0.187 г (78%). Желтое вязкое масло.  $[\alpha]_D^{20} +39.0^\circ$  (*c* 1.00, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). ИК-спектр,  $\nu$ , см<sup>-1</sup>: 3358, 1767, 17015, 1635, 1521, 1459, 1345, 1210, 1139, 1048. Спектр <sup>1</sup>H-ЯМР (ацетон-*d*<sub>6</sub>, 300 МГц): 1.22 (д, 3H, *J* 7.3, CH<sub>3</sub>), 1.30 (д, 3H, *J* 6.2, CH<sub>3</sub>), 2.20 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.28–2.40 (м, 4H, 2NCH<sub>2</sub>), 2.80 (уш. с, 1H, OH), 3.30 (д.д, 1H, *J* 2.5, 6.5, H6), 3.40–3.60 (м, 4H, 2NCH<sub>2</sub>), 3.78 (д.к, 1H, *J* 9.3, 7.3, H4), 3.83 (д, 1H, *J* 14.6, SCH<sub>2</sub>) и 3.95 (д, 1H, *J* 14.6, SCH<sub>2</sub>), 4.15 (д.к, 1H, *J* 6.5, 6.2, CH–OH), 4.25 (д.д, 1H, *J* 2.5, 9.3, H5), 5.30 (д, 1H, *J* 14.1, CH<sub>2</sub>Ph) и 5.55 (д, 1H, *J* 14.1, CH<sub>2</sub>Ph), 7.80 (д, 2H, *J* 8.5, H<sub>Ar</sub>) и 8.25 (д, 2H, *J* 8.6, H<sub>Ar</sub>). Спектр <sup>13</sup>C-ЯМР: 16.28 (CH<sub>3</sub>), 21.82 (CH<sub>3</sub>), 32.87 (SCH<sub>2</sub>), 41.74, 46.12, 54.35, 54.66 (NCH<sub>2</sub>), 43.22 (C4), 45.69 (NCH<sub>3</sub>), 56.06 (C6), 59.72 (C5), 65.35 (CH<sub>2</sub>Ph), 65.69 (CH–OH), 123.77 (CH<sub>Ar</sub>), 125.17 (C2), 128.17 (CH<sub>Ar</sub>), 142.89 (C<sub>Ar</sub><sup>i</sup>), 147.59 (C3), 150.13 (C<sub>Ar</sub><sup>i</sup>), 160.28 (CON), 166.43 (CON), 172.94 (CO<sub>2</sub>). Масс-спектр, *m/z* (*I*<sub>отн</sub>, %): 519 (100) [*M* + H]<sup>+</sup>, 269 (35). Найдено, %: С, 55.41; Н, 5.69; N, 10.93; S, 6.27. C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>S. Вычислено, %: С, 55.59; Н, 5.83; N, 10.80; S, 6.18.

**(4-Нитробензил)-(4*R*,5*S*,6*S*)-6-((1*R*)-1-гидроксиэтил)-3-[(2-((S)-1-метоксикарбонил-3-метилтио-1-пропил)амино)-2-оксоэтил]тио-4-метил-7-оксо-1-азабицикло[3.2.0]гепт-2-ен-2-карбоксилат (VIa).** Получали по общей методике из 0.29 г (0.50 ммоль) фосфоната (I), 0.14 г (0.60 ммоль) метил-*N*-(меркаптоацетил)метионината (X) и 0.10 мл (0.60 ммоль) DIPEA (0.5 ч, 0°C). Очищали колоночной хроматографией на SiO<sub>2</sub> (элюент – хлороформ–метанол, 60 : 1). Выход 0.25 г (87%). Светло-желтое маслообразное вещество.  $[\alpha]_D^{20} +87.5^\circ$  (*c* 1.00, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). ИК-спектр: 3353, 3324, 1757, 1739, 1676, 1518, 1437, 1347, 1203, 1134. Спектр <sup>1</sup>H-ЯМР: 1.23 (д, 3H, *J* 7.3, CH<sub>3</sub>), 1.35 (д, 3H, *J* 6.3, CH<sub>3</sub>), 1.70 (уш.с, 1H, OH), 1.95–2.40 (м, 1H, CH<sub>2</sub> Met), 2.08 (с, 3H, SCH<sub>3</sub>), 2.10–2.18 (м, 1H, CH<sub>2</sub> Met), 2.45–2.55 (м, 2H, CH<sub>2</sub> Met), 3.28 (дд, 1H, *J* 2.7, 6.5, H6), 3.42 (д, 1H, *J* 16.9, SCH<sub>2</sub>), 3.44 (дк, 1H, *J* 9.2, 7.3, H4), 3.68 (д, 1H, *J* 16.9, SCH<sub>2</sub>), 3.72 (с, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4.25 (дк, 1H, *J* 6.5, 6.3, CH–OH), 4.32 (дд, 1H, *J* 2.7, 9.3, H5), 4.68 (дд, 1H, *J* 4.8, 8.0,

12.5, СН–NH), 5.23 (д, 1H,  $J$  13.8, CH<sub>2</sub>Ph) и 5.52 (д, 1H,  $J$  13.8, CH<sub>2</sub>Ph), 7.20 (д, 1H,  $J$  8.0, NH), 7.67 (д, 2H,  $J$  8.8, H<sub>Ar</sub>), 8.22 (д, 2H,  $J$  8.8, H<sub>Ar</sub>). Спектр <sup>13</sup>C-ЯМР: 15.39 (CH<sub>3</sub>), 16.60 (CH<sub>3</sub>), 21.73 (CH<sub>3</sub>), 29.96 (CH<sub>2</sub>), 30.50 (CH<sub>2</sub>), 34.76 (CH<sub>2</sub>), 42.76 (C4), 51.96 (OCH<sub>3</sub>), 52.66 (CHNH), 56.05 (C6), 59.70 (C5), 65.42 (CH<sub>2</sub>Ph), 65.71 (CH–OH), 123.75 (CH<sub>Ar</sub>), 125.86 (C2), 128.11 (CH<sub>Ar</sub>), 142.76 (C<sub>Ar</sub><sup>i</sup>), 147.58 (C3), 148.70 (C<sub>Ar</sub><sup>i</sup>), 160.40 (CON), 167.48 (CON), 171.65 (CO<sub>2</sub>), 172.69 (CO<sub>2</sub>). Масс-спектр,  $m/z$  ( $I_{\text{отн}}$ , %): 582 (100) [ $M + H$ ]<sup>+</sup>, 496 (80) [MH–CO<sub>2</sub>Me]<sup>+</sup>, 238 (50). Найдено, %: С, 51.52; Н, 5.49; N, 7.38; S, 10.94. C<sub>25</sub>H<sub>31</sub>N<sub>3</sub>O<sub>9</sub>S<sub>2</sub>. Вычислено, %: С, 51.73; Н, 5.37; N, 7.22; S, 11.03.

**Общая методика гидрирования соединений (IIIa)–(VIa).** К перемешиваемому раствору ~0.1 г соединения (IIIa)–(VIa) в 10 мл метанола добавляли 30 мг 10% Pd/C, реакцию проводили в атмосфере водорода (контроль методом ТСХ). Затем катализатор отфильтровали, фильтрат упаривали и остаток вакуумировали.

**(4R,5S,6S)-6-[(1R)-1-Гидроксиэтил]-3-[(2-метокси-2-оксоэтил)тио]-4-метил-7-оксо-1-азабицикло[3.2.0]гепт-2-ен-2-карбоновая кислота (IIIб).** Получали по общей методике из 0.10 г (0.22 ммоль) соединения (IIIa) и 30 мг 10% Pd/C. Выход 56 мг (82%). ИК-спектр: 3430, 1728, 1713, 1609, 1520, 1455, 1436, 1408, 1347, 1300, 1278, 1136. Спектр <sup>1</sup>H-ЯМР: 1.20 (д, 3H,  $J$  7.3, CH<sub>3</sub>), 1.28 (д, 3H,  $J$  6.2, CH<sub>3</sub>), 3.25 (д.д, 1H,  $J$  2.3, 7.1, H6), 3.55 (д, 1H,  $J$  15.3, SCH<sub>2</sub>), 3.73 (с, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.76 (д, 1H,  $J$  15.3, SCH<sub>2</sub>), 4.08–4.13 (м, 2H, H4, СН–OH), 4.16 (д.д, 1H,  $J$  2.3, 9.1, H5). Спектр <sup>13</sup>C-ЯМР: 15.59 (CH<sub>3</sub>), 20.45 (CH<sub>3</sub>), 32.51 (SCH<sub>2</sub>), 42.97 (C4), 51.75 (OCH<sub>3</sub>), 56.33 (C6), 59.30 (C5), 65.53 (CH–OH), 126.50 (C2), 151.50 (C3), 163.00 (CON), 170.15 (CO<sub>2</sub>), 173.66 (CO<sub>2</sub>). Масс-спектр,  $m/z$  ( $I_{\text{отн}}$ , %): 324 (70) [ $M - H$ ]<sup>-</sup>, 299 (31), 270 (75), 238 (50), 226 (18). Найдено, %: С, 49.40; Н, 5.58; N, 4.60; S, 10.05. C<sub>13</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>6</sub>S. Вычислено, %: С, 49.51; Н, 5.43; N, 4.44; S, 10.17.

**(4R,5S,6S)-6-[(1R)-1-Гидроксиэтил]-4-метил-7-оксо-3-[(2-фурилметил)тио]-1-азабицикло[3.2.0]гепт-2-ен-2-карбоновая кислота (IVб).** Получали по общей методике из 0.09 г (0.19 ммоль) соединения (IVa) и 30 мг 10% Pd/C. Выход 63 мг (71%). Спектр <sup>1</sup>H-ЯМР: 1.20 (д, 3H,  $J$  7.3, CH<sub>3</sub>), 1.29 (д, 3H,  $J$  6.3, CH<sub>3</sub>), 3.23 (д.д, 1H,  $J$  7.2, 2.4, H6), 3.58 (д.к, 1H,  $J$  9.1, 7.3, H4), 4.03 (д, 1H,  $J$  14.7, SCH<sub>2</sub>), 4.09 (д.к, 1H,  $J$  7.2, 6.3, СН–OH), 4.12 (д.д, 1H,  $J$  9.1,  $J$  2.4, H5), 4.22 (д, 1H,  $J$  14.7, SCH<sub>2</sub>), 6.29 (д, 1H,  $J$  3.2, H3<sub>fur</sub>), 6.34 (д.д, 1H,  $J$  1.9, 3.2, H4<sub>fur</sub>), 7.43 (д, 1H,  $J$  1.9, H5<sub>fur</sub>). Спектр <sup>13</sup>C-ЯМР: 15.68 (CH<sub>3</sub>), 20.46 (CH<sub>3</sub>), 27.82 (SCH<sub>2</sub>), 43.03 (C4), 56.27 (C6), 59.33 (C5), 65.57 (CH–OH), 107.63, 110.28 (C3<sub>fur</sub> и C4<sub>fur</sub>), 142.32 (C5<sub>fur</sub>), 150.93 (C2<sub>fur</sub>), 125.87 (C2), 149.34 (C3), 162.92 (CON), 173.70 (CO<sub>2</sub>). Масс-спектр,  $m/z$

( $I_{\text{отн}}$ , %): 324 (60) [ $M + H$ ]<sup>+</sup>, 315 (76), 279 (50), 238 (56). Найдено, %: С, 55.60; Н, 5.44; N, 4.49; S, 9.84. C<sub>15</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>5</sub>S. Вычислено, %: С, 55.71; Н, 5.30; N, 4.33; S, 9.92.

**(4R,5S,6S)-6-[(1R)-1-Гидроксиэтил-4-метил-3-[[2-(4-метилпиперазин-1-ил)-2-оксоэтил]тио]-7-оксо-1-азабицикло[3.2.0]гепт-2-ен]-2-карбоновая кислота (Vб).** Получали из 0.088 г (0.17 ммоль) соединения (Va) и 30 мг 10% Pd/C. Выход 50 мг (75%). В спектре <sup>1</sup>H-ЯМР соединения (Vб) цвиттер-ионной природы ряд сигналов пиперидинового кольца и C4–H не приведены из-за плохого разрешения. Спектр <sup>1</sup>H-ЯМР: 1.18 (д, 3H,  $J$  7.3, CH<sub>3</sub>), 1.25 (д, 3H,  $J$  6.3, CH<sub>3</sub>), 2.79 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.20 (д.д, 1H,  $J$  2.6, 6.3, H6), 3.22 (уш.с, 2H, NCH<sub>2</sub>), 3.60 (м, 1H, H4), 3.61 (д, 1H,  $J$  14.2, SCH<sub>2</sub>), 3.75 (д, 1H,  $J$  14.2, SCH<sub>2</sub>), 4.10 (к, 1H,  $J$  6.3, СН–OH), 4.15 (д.д, 1H,  $J$  2.6, 9.6, H5). Спектр <sup>13</sup>C-ЯМР: 15.22 (CH<sub>3</sub>), 20.34 (CH<sub>3</sub>), 32.36 (SCH<sub>2</sub>), 39.24, 45.57, 52.87, 52.97 (NCH<sub>2</sub>), 41.64 (NCH<sub>3</sub>), 42.65 (C4), 55.77 (C6), 59.73 (C5), 64.96 (CH–OH), 125.18 (C2), 147.07 (C3), 166.18 (CON), 168.02 (CON), 174.78 (CO<sub>2</sub>). Масс-спектр,  $m/z$  ( $I_{\text{отн}}$ , %): 384 (100) [ $M + H$ ]<sup>+</sup>, 340 (33), 289 (26), 269 (66), 216 (26), 143 (28). Найдено, %: С, 53.39; Н, 6.41; N, 11.08; S, 8.22. C<sub>17</sub>H<sub>25</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>S. Вычислено, %: С, 53.25; Н, 6.57; N, 10.96; S, 8.36.

**(4R,5S,6S)-6-[(1R)-1-Гидроксиэтил]-3-[(2-((S)-1-метоксикарбонил-3-тиометил-1-пропил)амино)-2-оксоэтил]тио]-4-метил-7-оксо-1-азабицикло[3.2.0]гепт-2-ен]-2-карбоновая кислота (VIб).** Получали из 0.102 г (0.18 ммоль) эфира (VIa) и 30 мг 10% Pd/C. Выход 68 мг (85%). Спектр <sup>1</sup>H-ЯМР: 1.20 (д, 3H,  $J$  7.3, CH<sub>3</sub>), 1.28 (д, 3H,  $J$  6.2, CH<sub>3</sub>), 1.93–2.30 (м, 1H, CH<sub>2</sub>Met), 2.08 (с, 3H, SCH<sub>3</sub>), 2.08–2.16 (м, 1H, CH<sub>2</sub>Met), 2.47–2.62 (м, 2H, CH<sub>2</sub>Met), 3.25 (д.д, 1H,  $J$  2.4, 7.1, H6), 3.53 (д, 1H,  $J$  15.1, SCH<sub>2</sub>), 3.56 (д.к, 1H,  $J$  9.2, 7.3, H4), 3.67 (д, 1H,  $J$  15.1, SCH<sub>2</sub>), 3.71 (с, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4.09 (д.к, 1H,  $J$  7.1, 6.2, СН–OH), 4.18 (д.д, 1H,  $J$  2.4, 9.2, H5), 4.53–4.6 (м, 1H, СНН). Спектр <sup>13</sup>C-ЯМР: 13.83 (CH<sub>3</sub>), 15.64 (CH<sub>3</sub>), 20.47 (CH<sub>3</sub>), 29.70 (SCH<sub>2</sub>), 30.22 (CH<sub>2</sub>), 34.12 (CH<sub>2</sub>), 42.93 (C4), 48.46 (CHN), 51.66 (OCH<sub>3</sub>), 56.29 (C6), 59.31 (C5), 65.48 (CH–OH), 126.54 (C2), 148.18 (C3), 164.04 (CON), 169.85 (CON), 172.03 (CO<sub>2</sub>), 173.77 (CO<sub>2</sub>). Масс-спектр,  $m/z$  ( $I_{\text{отн}}$ , %): 447 (18) [ $M + H$ ]<sup>+</sup>, 435 (70), 289 (26), 421 (75), 403 (25), 206 (50). Найдено, %: С, 48.58; Н, 5.96; N, 6.14; S, 14.47. C<sub>18</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>S<sub>2</sub>. Вычислено, %: С, 48.42; Н, 5.87; N, 6.27; S, 14.36.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

Для исследования антибактериальной активности синтезированных карбапенемов в качестве тестовых микроорганизмов использовали музейные штаммы: *Escherichia coli* № 25922, *Pseudomonas aeruginosa* (штамм SS14 KC 866140), *Candida albicans*

№ 24433 (все из коллекции Клиники БГМУ), *Streptococcus oralis* № 27417 (из коллекции кафедры фундаментальной и прикладной микробиологии БГМУ).

Для приготовления рабочих растворов из основных растворов тестируемых соединений в диметилсульфоксиде (DMSO) использовали бульон Мюллера-Хинтона (“HiMedia”, Индия). В качестве препаратов сравнения использовали известные антибиотики Меропенем (Meropenem (*род.* Meropeni) (Джепак Интернейшенл, Индия) и Цилапенем (Imipenem + Cilastatinum (*род.* Imipenemi + Cilastatini)) (РУП Белмедпрепараты, Республика Беларусь).

Минимальные подавляющие концентрации (МПК) химических соединений (IIIa)–(VIa), (IIIб)–(VIб) оценивали референтным методом микроразведений в бульоне. Для этого готовили основные растворы из имевшихся навесок тестируемых веществ в стерильных флаконах, которые растворяли в 1 мл DMSO с вычислением процентной концентрации (С, %). Затем готовили рабочие растворы путем двукратных последовательных разведений основных растворов (выше и ниже концентрации 1 мкг/мл) в бульоне Мюллера-Хинтона. Готовые разведения использовали в день их приготовления.

Инокулом готовили путем суспендирования в физиологическом растворе 4–5 морфологически однородных колоний, выросших на чистой неселективной твердой питательной среде, инкубированной при 37°C в течение 18–24 ч, и доводили суспензию до мутности, эквивалентной 0.5 стандарта МакФарланд ( $1.5 \times 10^8$  КОЕ/мл). Далее приготовленный инокулом разводили в бульоне Мюллера-Хинтона (разведение 1 : 100), чтобы по-

лучить требуемую плотность микробной культуры  $5 \times 10^6$  КОЕ/мл. Планшеты инокулировались в течение не более 30 мин после приготовления инокулюма для сохранения необходимого числа жизнеспособных клеток.

Для проведения эксперимента по определению минимальных подавляющих концентраций использовали планшеты, в отдельные лунки которых последовательно добавляли по 50 мкл каждого из рабочих растворов тестируемых химических соединений. К каждой лунке, содержащей 50 мкл раствора химического соединения, разведенного в бульоне, добавляли 50 мкл бактериальной суспензии ( $5 \times 10^6$  КОЕ/мл).

Для контроля роста всех проверяемых штаммов микроорганизмов обязательно ставили положительный контрольный образец (ПКО) в лунке, содержащей 50 мкл бульона и инокулюма соответствующего микроорганизма без химического соединения. Аналогично, лунка, содержащая 50 мкл питательного бульона без химического соединения, была использована как неинокулированная лунка отрицательного контрольного образца (ОКО).

Планшеты для микроразведений перед инкубацией заклеивали прозрачной пленкой и запечатывали в полиэтиленовые пакеты для предотвращения высыхания. Планшеты инкубировали в термостате в течение 16–20 часов при 37°C. Для более равномерного нагревания планшеты были сложены в стопки не больше чем по пять штук.

Диапазоны микроразведений для определения МПК исследуемых соединений составили от 0.5 до 0.015625 мкг/мл.

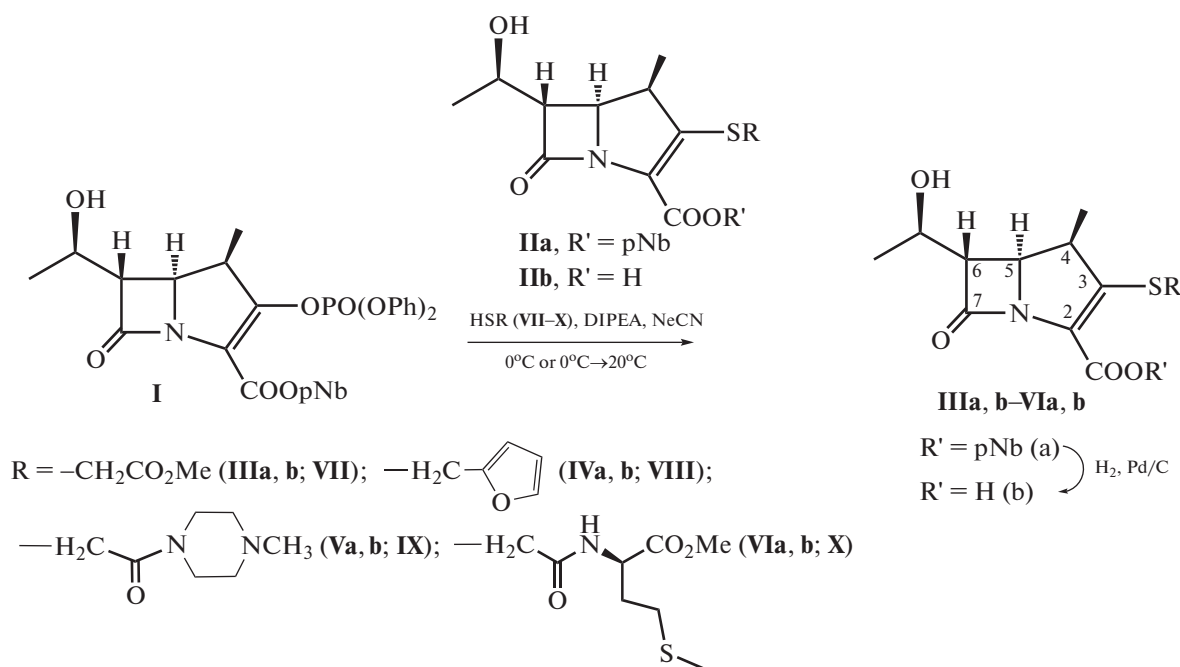


Схема 1. Синтез новых модифицированных по C3-положению карбапенемов.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Анализы выполнены на оборудовании ЦКП “Химия” УФИХ УФИЦ РАН.

## ФОНДОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (проект № 15-13-00039-П).

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием животных в качестве объектов и с участием людей в качестве объектов исследований.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Fossi F. // Clin. Infect. Dis. 2011. V. 52. P. 1138–1143.
2. Worthington R.J., Melander C. // J. Org. Chem. 2013. V. 78. P. 4207–4213.
3. Zhanel G.G., Wiebe R., Dilay L., Thomson K., Rubinstein E., Hoban D.J., Noreddin A.M., Karlowsky J.A. // Drugs. 2007. V. 67. P. 1027–1052.
4. Papp-Wallace K.M., Endimiani A., Taracila M.A., Bonomo R.A. // Antimicrob. Agents Chemother. 2011. V. 55. P. 4943–4960.
5. El-Gamal M.I., Kim S.J., Or Ch.-H. // J. Antibiot. 2011. V. 64. P. 687–688.
6. Pieczykolan M., Furman B., Chimielewski M. // J. Antibiot. 2017. V. 70. P. 781–787.
7. Tanaka Sh., Matsui H., Kasai M., Kunishiri K., Kakeya N., Shirahase H. // J. Antibiot. 2011. V. 64. P. 233–242.
8. Bodner M.J., Phelan R.M., Townsend C.A. // Org. Lett. 2009. V. 11. P. 3606–3609.
9. Soluch M., Grzeszczyk B., Staszewska-Krajewska O., Chimielewski M., Furman B. // J. Antibiot. 2016. V. 69. P. 164–168.
10. Mori M., Oida S. // Chem. Pharm. Bull. 2000. V. 48. P. 126–130.
11. Каталог фирмы Sigma–Aldrich (<https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/h54409>).
12. Shih D.H., Baker F., Cama L., Christensen B.G. // Heterocycles. 1984. V. 21. P. 29–40.
13. Berks A.H. // Tetrahedron. 1996. V. 52. P. 331–375.
14. Sunagawa I., Matsumura H., Inoe T., Fukasawa M., Kato M. // J. Antibiot. 1990. V. 43. P. 519–532.
15. Tewari N., Nizar H., Prakash B., Singh S.K., George V., Prasad M. // Org. Proc. Res. Dev. 2007. V. 11. P. 773–775.
16. Nishino Y., Kobayashi M., Shinno T., Izumi K., Yonezawa H., Masui Y., Takahira M. // Org. Proc. Res. Dev. 2003. V. 7. P. 846–850.

Synthesis and *in vitro* Antibacterial Activity of New Modified at C-3 Carbapenems

Z. R. Valiullina\*, A. M. Galeeva\*, F. A. Gimalova\*, N. K. Selezneva\*, L. S. Khasanova\*,  
A. R. Mavzyutov\*\*, and M. S. Miftakhov\*.,#

#Phone +7 (347)235-58-47; e-mail: bioreg@anrb.ru

\*Ufa Institute of Chemistry, Ufa Federal Research Centre of Russian Academy of Sciences,  
pr. Oktyabrya 71, Ufa, 450054 Russia

\*\*Bashkir State Medical University, ul. Lenina 3, Ufa, 450025 Russia

New C-3 modified carbapenems were synthesized by the Ad<sub>N</sub>E-substitution of the enol phosphate group of 4-nitrobenzyl (4R)-3-[(diphenylphosphoryl)oxy]-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-4-methyl-7-oxo-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carboxylate with the corresponding thiols in acetonitrile with the presence of diisopropylethylamine (DIPEA). Methyl esters of mercaptoacetic acid, furan-1-methylthiol, methyl N-(mercaptoacetyl)methioninate and 2-(4-methylpiperazin-1-yl)-2-oxoethanethiol as the thiols were used. As a result, were received the expected 4-nitrobenzyl esters: of 3-[(2-methoxy-2-oxoethyl)thio]-, 3-[(2-furylmethyl)thio]-, 3-[[2-(4-methylpiperazin-1-yl)-2-oxoethyl]thio]- and 3-[[2-(S)-1-methoxy-4-methylthio-1-oxopropan-2-yl]amino]-2-oxoethyl]thio derivatives of (4R,5S,6S)-6-[(1R)-1-hydroxyethyl]-4-methyl-7-oxo-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-ene-2-carboxylic acid, the yields of which after purification by column chromatography were 67–87%. The resulting pNb-esters (pNb – p-nitrobenzyl) of carbapenems by hydrogenolysis of 10% Pd/C in methanol to the corresponding acids were converted. The antibacterial activity of the obtained carbapenems and their preceding pNb-esters was studied with respect to the microorganisms *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Streptococcus oralis*. The compounds that exceed the known drugs Meropenem and Cilapenem were found.

*Keywords:* carbapenemenolephosphate, mercaptoacetic acid, amides, synthesis, carbapenems, antibacterial activity